

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei – Oktober 2020, di Laboratorium Teknologi Pangan Fakultas Pertanian Peternakan Universitas Muhammadiyah Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain sendok, pisau, panci, toples, baskom, blender (panasonic), timbangan digital (SF), freezer (uchida), dan kompor. Alat yang digunakan untuk analisa antara lain termometer, tabung reaksi, rak tabung reaksi, gelas ukur 25 ml, gelas ukur 100 ml, gelas ukur 50 ml, erlenmeyer 50 ml, pipet volume, bola hisap, kuvet, aluminium foil, kertas saring, kain saring, stopwatch, timbangan analitik (Ohaus Pioneer), viskometer brookfield, spektrofotometer (Ghenesys 20), pH meter merek WTW tipe pH 315i, sentrifius, dan *Ice Cream Maker* (ICM).

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam pembuatan *water ice* adalah bayam merah yang diperoleh dari pasar karang plosong dengan lebar daun yang seragam umur panen 25 hari dan tingkat kesegaran 80%, gula yang diperoleh dari pasar merjosari, dan CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*) yang diperoleh dari toko kimia di Malang. Bahan-bahan kimia untuk analisa seperti iodium, amilum, serbuk DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*), metanol, etanol, larutan KCl, larutan Na-asetat, dan HCl 37%.

3.3 Metode penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam 2 tahapan, tahap ke-1 melakukan pembuatan ekstrak bayam merah. Penelitian tahap ke-2 yaitu pembuatan *water ice* dengan penambahan konsentrasi ekstrak bayam merah dan konsentrasi bahan penstabil yang berbeda. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang disusun secara Faktorial, menggunakan 2 faktor yaitu faktor pertama

adalah perbedaan konsentrasi ekstrak bayam merah terdiri dari 3 level dan faktor kedua adalah konsentrasi CMC 3 level sehingga diperoleh 9 perlakuan dengan 2 kali ulangan.

Faktor-faktor yang digunakan dalam penelitian ini adalah konsentrasi sari bayam merah (B) dan perbandingan CMC (K)

Faktor 1 : konsentrasi sari bayam merah (B) (v/v)

B1 = 20%

B2 = 25%

B3 = 30%

Faktor 2 : konsentrasi CMC (K) (b/b)

K1 = 0,5 %

K2 = 0,75%

K3 = 1%

Tabel 3. Kombinasi Matrik Acak Kelompok dengan Desain Faktorial 3x3

Konsentrasi Sari Bayam Merah	Perbandingan bahan penstabil		
	K1	K2	K3
B1	B1K1	B1K2	B1K3
B2	B2K1	B2K2	B2K3
B3	B3K1	B3K2	B3K3

Keterangan perlakuan :

B1K1 : Sari Bayam Merah 20% dengan CMC 0,5%

B1K2 : Sari Bayam Merah 20% dengan CMC 0,75%

B1K3 : Sari Bayam Merah 20% dengan CMC 1%

B2K1 : Sari Bayam Merah 25% dengan CMC 0,5%

B2K2 : Sari Bayam Merah 25% dengan CMC 0,75%

B2K3 : Sari Bayam Merah 25% dengan CMC 1%

B3K1 : Sari Bayam Merah 30% dengan CMC 0,5%

B3K2 : Sari Bayam Merah 30% dengan CMC 0,75%

B3K3 : Sari Bayam Merah 30% dengan CMC 1%

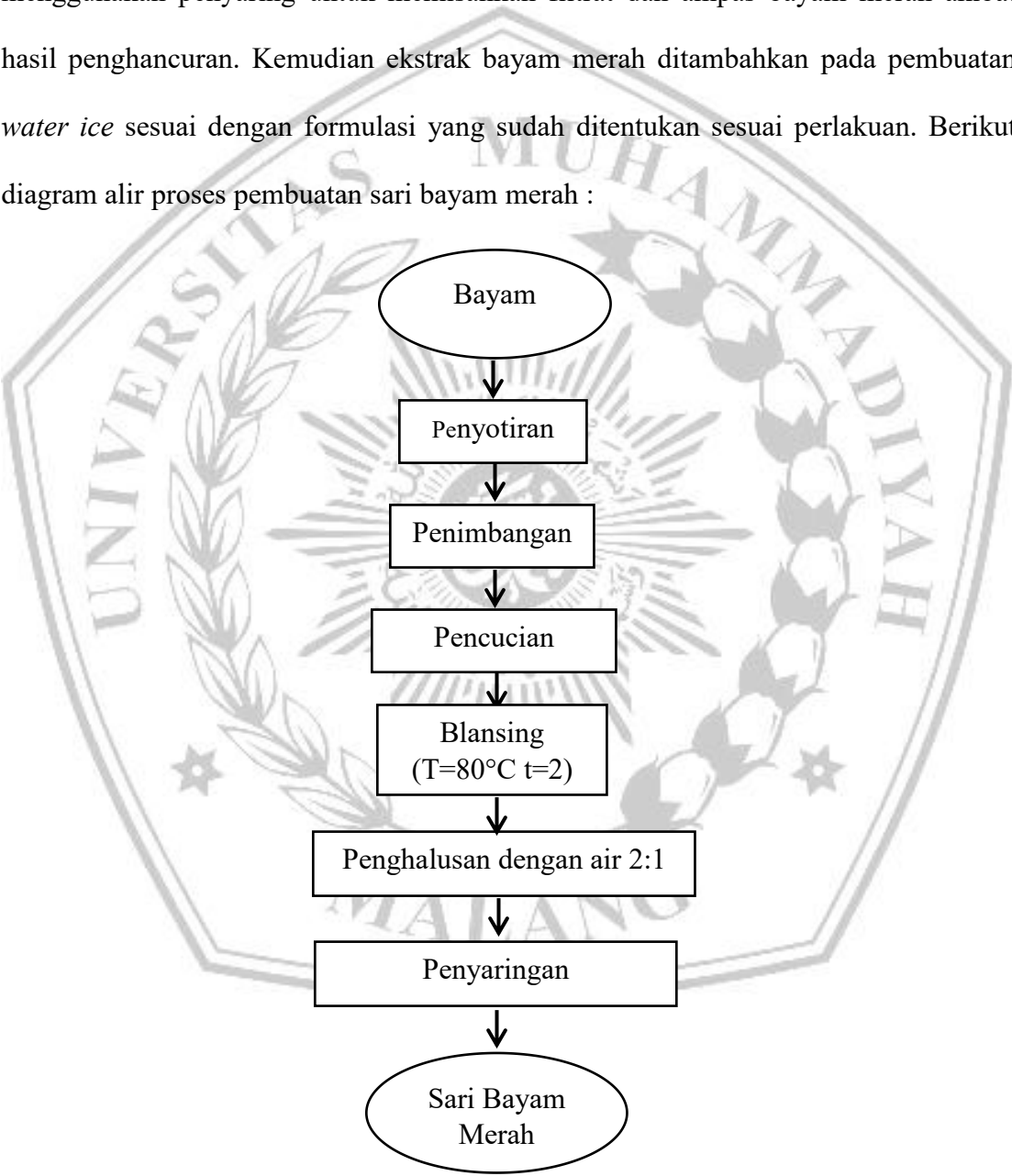
Diperoleh 9 perlakuan, dengan 2 kali ulangan. Pada bab pembahasan akan dibandingkan secara deskriptif dengan kontrol yaitu produk pasar shorbet stroberi dikarenakan mempunyai warna yang sama yaitu merah keunguan.

3.4 Tahapan Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini terdiri atas beberapa tahap yaitu tahap pertama pembuatan ekstrak bayam merah, tahap kedua yaitu pembuatan *water ice* dilanjutkan dengan pengujian parameter yang telah ditentukan.

3.4.1 Pembuatan Sari Bayam Merah

Bayam merah yang akan digunakan disortasi terlebih dahulu dan dipotong. Kemudian setelah dipotong bayam merah ditimbang dan di *steaming*. *Steaming* bayam merah ini pada suhu 80°C dengan waktu 2 menit. Proses ekstraksi pigmen yaitu penghancuran bahan dan pelarut dengan perbandingan 2:1 menggunakan blender dengan waktu ± 1 menit. Filtrat yang dihasilkan dari penghancuran, disaring menggunakan penyaring untuk memisahkan filtrat dan ampas bayam merah akibat hasil penghancuran. Kemudian ekstrak bayam merah ditambahkan pada pembuatan *water ice* sesuai dengan formulasi yang sudah ditentukan sesuai perlakuan. Berikut diagram alir proses pembuatan sari bayam merah :

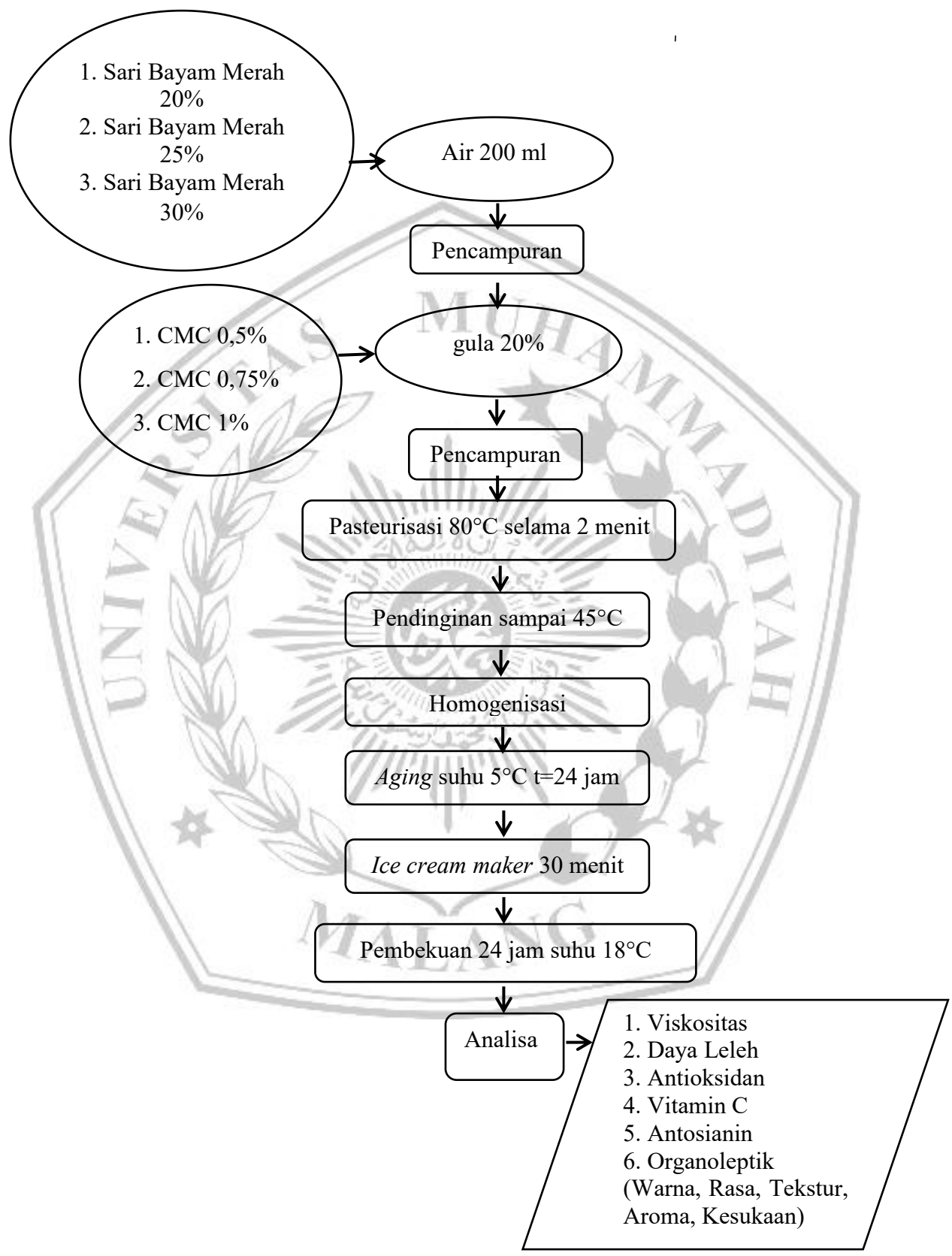


Gambar 3. Diagram Alir Pembuatan Sari Bayam Merah (Basito, 2018)

3.4.2 Pembuatan *Water Ice*

Pembuatan *water ice* bayam merah dengan bahan antara lain air sebanyak 200 ml, CMC sesuai dengan perlakuan, dan gula 20%. Air 200 ml, CMC, dan gula

dipasteurisasi dengan suhu 80°C selama 2 menit. Setelah adonan dipasteurisasi, kemudian dinginkan adonan hingga 45°C lalu homogenkan dengan mixer selama 5 menit. Berikut diagram alir proses pembuatan *water ice* bayam merah :



Gambar 4. Diagram Alir Pembuatan *Water Ice* (Iman, 2018)

3.5 Parameter Pengamatan

3.5.1 Penentuan Viskositas (Yuwono dkk, 2001)

1. Spindel dipilih sesuai dengan konsentrasi atau tingkat kekentalan bahan
2. Pangkal spindle dimasukkan pada lubang penghubung rotor
3. Spindel diturunkan pada bahan sampai batas, kemudian mengatur kecepatan spindle dan tunggu hingga stabil
4. Pengatur kecepatan dimatikan dan baca skala yang ditunjukkan
5. Pembacaan dilakukan hingga didapatkan data yang valid

3.5.2 Penentuan Aktivitas Antioksidan Metode Radical Scavenging Activity (Blois, 1958 dalam Hanani *et al.*, 2005)

1. Serbuk DPPH dilarutkan sebanyak 1,182 mg ke dalam 50 mL metanol.
2. DPPH diambil 1 mL 0,1 ml dan menambah 1 mL senyawa uji
3. DPPH diencerkan dengan methanol sampai 5 mL.
4. Campuran larutan dikocok dengan vortex selama 10 detik.
5. Larutan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 20 menit. Selama proses reduksi oleh antioksidan, larutan DPPH radikal akan berubah warna dari ungu menjadi kuning pucat.
6. Pengukuran dilakukan dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 517 nm (As).
7. Larutan blanko yang digunakan terdiri dari 33,33 µL metanol dalam 1 mL DPPH dan mengukurnya pada panjang gelombang yang sama (Ab). Trolox digunakan sebagai kontrol positif. Perlakuan pada uji DPPH ini dengan tiga kali pengulangan (triplicate). Menghitung aktivitas penghambatan radikal dengan rumus di bawah ini:

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\%$$

3.5.3 Analisa Kecepatan Leleh (Nelson and Trout, 1965)

1. Suhu dan kelembaban ruangan diukur.

2. Sebagian bahan diambil dari ice maker dengan menggunakan skop bahan sehingga memperoleh sampel yang berat seseragam mungkin kurang lebih 100 gram dan memasukkan ke cawan petri kemudian membekukan dalam *freezer* selama 24 jam.
3. Sampel diambil dari *freezer* dan meletakkan pada suhu kamar dan membiarkan sampai semua sampel meleleh.
4. Waktu dicatat sampai semua sampel meleleh dan selanjutnya menganalisa secara statistik.

3.5.4 Analisis Vitamin C Iodimetri (Obirinakem, 2015)

1. Filtrat diambil 25 ml
2. Filtrat dimasukkan kedalam erlenmeyer 100 ml
3. 1 ml amilum 1% ditetaskan dan ditambahkan ke dalamnya.
4. Filtrat di titrasi ditambahkan dengan amilum dan larutan iodium standar 0.01 N sampai terjadi perubahan warna.

3.5.5 Analisis Antosianin metode pH Differential (AOAC, 2005)

1. Pembuatan larutan buffer

pH 1 : larutan KCl 0,025 M ditambahkan sebanyak 980 mL dengan 0,63 mL HCl 37%.

pH 4,5 : larutan Na-asetat 0,4 M ditambahkan sebanyak 960 mL dengan 3 mL HCl 37%.
2. Penentuan antosianin
 - a. Sampel dimasukkan kedalam *beaker glass* dan menambahkan metanol asam dengan perbandingan (1:1)
 - b. Larutan dihomogenkan dan menutup seluruh bagian dengan penutup gelap (aluminium foil)
 - c. Sampel dimaserasi pada suhu -23°C selama 1 jam
 - d. Larutan sampel dimasukkan ke dalam 2 tabung reaksi sebanyak 1 mL. Larutan buffer pH 1 sebanyak 9 mL ditambahkan ke dalam tabung reaksi pertama dan buffer pH 4,5 sebanyak 9 mL ke dalam tabung reaksi kedua.

- e. Kedua larutan sampel discanning dengan panjang gelombang rentang 200-750 nm untuk mengetahui panjang gelombang maksimal yang dimiliki oleh sampel pewarna
- f. Pengukuran dikalkulasikan panjang gelombang maksimal dan panjang gelombang 700 nm pada masing-masing contoh dan hasilnya dikalkulasikan berdasarkan persamaan berikut :

$$A = (A_{vis-maks} - A_{700nm})_{pH1} - (A_{vis-maks} - A_{700nm})_{pH4,5}$$

$$\text{Konsentrasi Antosianin (mg/L)} = \frac{[(A \times MW \times DF \times 1000)]}{(\epsilon) \times l}$$

Keterangan :

A = Arbsorbansi

MW = berat molekul sianidin glukosida = 449,2

DF = faktor pengenceran = 10 mL/1 mL

ε = Absorbansi molar koefisien ekstingsi molar (29.600 L cm⁻¹)

l = lebar kuvet (1 cm)

3.5.6 Organoleptik (Rahayu, 2001)

Uji organoletik meliputi warna, rasa, kenampakan, aroma, dan tekstur. Pengujian menggunakan skala hedonik terdiri dari 5 nilai dengan 5 pernyataan. Penilaian hedonik dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 4. Skor Organoleptik

No	Warna	Rasa	Kesukaan	Aroma	Tekstur
1	Sangat tidak menarik	Sangat tidak enak	Sangat tidak suka	Sangat tidak beraroma	Sangat tidak lembut
2	Tidak menarik	Tidak enak	Tidak suka	Tidak beraroma	Tidak lembut
3	Agak menarik	Agak enak	Agak suka	Agak beraroma	Agak lembut
4	Netral	Netral	Netral	Netral	Netral
5	Agak menarik	Agak enak	Agak suka	Agak beraroma	Agak lembut
6	Menarik	Enak	Suka	Beraroma	Lembut
7	Sangat Menarik	Sangat Enak	Sangat Suka	Sangat beraroma	Sangat Lembut

Pengujian dilakukan dengan memberikan secara acak 12 sampel dengan masing-masing diberi kode yang berbeda kepada 25 panelis tidak terlatih. Selanjutnya panelis diminta memberikan penilaian terhadap sampel sesuai skala hedonik yang sudah disediakan.

3.6 Analisa Data

Data pengamatan penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Kelompok (RAK) dan dianalisis menggunakan analisa ragam atau analysis of variance (ANOVA) pada taraf 5% untuk mengetahui pengaruh dari perlakuan selanjutnya apabila perlakuan berpengaruh nyata maka akan dilanjutkan dengan uji DMRT. Penentuan perlakuan terbaik dianalisa menggunakan metode uji de garmo.

